

**ВЛИЯНИЕ КАЗЕИНА НА ЛИПОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ
ПОДЖЕЛУДОЧНОГО СОКА С УЧАСТИЕМ И БЕЗ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ**
О. К. Джалалова, В. А. Алейник, С. М. Бабич, Г. М. Ходжиматов, Ш. Х. Хамракулов
Андижанский государственный медицинский институт, Андижан, Узбекистан

Ключевые слова: казеин, липолитическая активность, гидролиз белков, протеолитические ферменты, желудочный сок, поджелудочный сок, желчные кислоты.

Таянч сўзлар: казеин, липолитик фаоллик, оксилли гидролиз, протеолитик ферментлар, ошқозон суви, панкреатик суви, сафро кислоталари.

Keywords: casein, lipolytic activity, protein hydrolysis, proteolytic enzymes, gastric juice, pancreatic juice, bile acids.

Изучали роль казеина и его гидролизатов в ингибировании липазы и связывающей способности его с желчными кислотами, за счет изменения активности панкреатической липазы и переваривания жиров. Сделаны выводы, что предварительный гидролиз белков пепсинами в желудке способствует не только дальнейшему улучшению гидролиза их под влиянием протеолитических ферментов поджелудочного сока (триптической атакемости белков), но также снижению связывающей способности их с желчными кислотами и улучшению гидролиза жиров под влиянием панкреатической липазы. Этот факт, возможно, является более важным для гидролитической функции желудка, чем триптическая атакемость белков в желудке и главным эволюционным фактором предварительного переваривания белков желудочным соком.

**КАЗЕИНИ ОШҚОЗОН ОСТИ БЕЗИ ШИРАСИНИ ЛИПОЛИТИК ФАОЛЛИГИГА
ЎТ КИСЛОТАЛАРИ БИЛАН БИРГАЛИҚДАГИ ВА УЛАРСИЗ ТАЪСИРИ**

О. К. Джалалова, В. А. Алейник, С. М. Бабич, Г. М. Ходжиматов, Ш. Х. Хамракулов
Андижон давлат тиббиёт институти, Андижон, Ўзбекистон

Казеин ва унинг гидролизатори липазанинг ингибирланиши ва унинг сафро кислоталари билан боғланиш қобилиятини, панкреатик липазанинг активлигини ўзгариши ва ёғларни сўрилишини бузилиши билан боғлиқлигини ўргандик. Хулоса қилиб айтганда, ошқозондаги пепсин томонидан дастлабки оксил гидролизланиши, нафақат ошқозон ости беги протеолитик ферментларининг таъсирида гидролизни янада яхшилайдиган (оксиллар триптик хужими), ўт кислоталари билан боғланиш хусусиятини пасайтиради ва панкреатик липаза таъсири остида ёғлар гидролизини кучайтиради. Бу маълумот ошқозон гидролитик функцияси учун муҳим ҳисобланади, ошқозондаги триптик оксиллар хужимидан кўра ва ошқозон шираси таъсирида оксилларни бошланғич эволюцион сўрилиш омили сифатида эътироф этилади.

**EFFECT OF KAZEIN ON LIPOLYTIC ACTIVITY OF THE PANCREATIC JUICE
WITH AND WITHOUT PARTICIPATION OF BILIC ACIDS**

O. K. Dzhahalova, V. A. Aleinik, S. M. Babich, G. M. Khodzhimatov, Sh. H. Khamrakulov
Andijan state medical institute, Andijan, Uzbekistan

We studied the role of casein and its hydrolysates in the inhibition of lipase and its binding ability with bile acids, by changing the activity of pancreatic lipase and digesting fats. It was concluded that preliminary hydrolysis of pepsin proteins in the stomach not only further improves their hydrolysis under the influence of proteolytic enzymes of pancreatic juice (tryptic attack of proteins), but also reduces their binding capacity with bile acids and improves hydrolysis of fats under the influence of pancreatic lipase. This fact is probably more important for the hydrolytic function of the stomach than the tryptic attack of proteins in the stomach and the main evolutionary factor in the preliminary digestion of proteins with gastric juice.

Влияние пищевых белков и их гидролизатов на изменение липолитической активности и перевариваемости жиров вызывает большой интерес, так как показано, что многие белки ингибируют поджелудочную липазу за счет конкурентной адсорбции белков и десорбции белками липазы с поверхности жировых капель. После гидролиза пепсинами белков в желудке и образовании из них полипептидов со значительно меньшей молекулярной массой, снижается возможность к конкурентной адсорбции на границе вода/жир и способность к ингибированию панкреатической липазы [6]

Кроме того белки могут адсорбировать соли желчных кислот [2, 3, 5]. При этом гидролизаты некоторых белков имеют более высокую способность ингибировать липазу, чем сам белок [4].

Было установлено с применением нескольких низкомолекулярных эмульгаторов [7], что липолиз триглицеридов зависит от соотношения эмульгатора и желчи. При высокой концентрации эмульгатора к желчи, в адсорбционном слое на поверхности жировой капли преобладают молекулы желчи, поскольку молекулы эмульгатора преимущественно включены в желчные мицеллы. При высокой концентрации эмульгатора к желчи, молекулы эмульгатора преобладают в адсорбционном слое на жировых каплях и липазная активность полностью подавляется, как в случае без желчных солей [8].

Эти исследования показывают, что многие белки могут препятствовать гидролизу жиров поджелудочной липазой за счет конкурентной адсорбции белков и десорбции белками липазы с поверхности жировых капель. Также белки способны связываться с желчными кислотами, обеспечивая десорбцию белков с поверхности жировых капель и тем самым увеличивая конкурентную адсорбцию белков и десорбцию белками липазы. В тоже время после гидролиза белков значительно уменьшается их способность, как к конкурентной адсорбции белков, так и к связыванию с желчными кислотами. Что способствует улучшению переваривания жиров. Отсюда вытекает предположение, что роль пепсинов в желудке заключается не только в улучшении перевариваемости белков трипсином, но также в улучшении перевариваемости жиров липазой.

Степень гидролиза различных белков может иметь существенное воздействие на липолиз жиров у некоторых больных с пониженной общей концентрацией желчных кислот - с илеоэктомией, стеатореей, и у пациентов с недостаточностью поджелудочной железы, а также с недостаточной функцией желудка. Это может стать дополнительным обоснованием для разработки и использования лечебных диет в специфической терапевтической коррекции у таких больных.

Цель исследования: изучить роль казеина и его гидролизатов в ингибировании липазы и связывающей способности его с желчными кислотами, за счет изменения активности панкреатической липазы и переваривания жиров.

Материал и методы. В работе были использованы желудочный и поджелудочный соки, полученные в хронических экспериментах у собак при тощаковой секреции, а также желчь, взятая у собак после проведения острых экспериментов. В поджелудочном соке определялась активность липазы [1], в присутствии различных концентраций казеина, и его гидролизатов под влиянием желудочного сока. В одних исследованиях в качестве субстрата для панкреатической липазы использовался 1% трибутирин, эмульгированный казеином в нарастающей концентрации от 0,1 до 1%. В качестве стабилизатора эмульсий использовали 2,5% раствор аравийской камеди. В других исследованиях в качестве субстрата для панкреатической липазы использовался 1% трибутирин, эмульгированный желчью разведенной 1:5 физиологическим раствором и дополнительно казеином в нарастающей концентрации от 1 до 36%. С целью снижения расщепления казеина, протеолитическая активность поджелудочного сока ингибировалась использованием преинкубации его с 0,1% раствором соевого ингибитора.

Исследование липолитической активности поджелудочного сока с казеином проводилась в 3 вариантах: 1 – без предварительной инкубации с желудочным соком, 2 – с 30 мин предварительной инкубацией с желудочным соком, 3 – с 60 мин предварительной инкубацией с желудочным соком.

Преинкубация казеиновых субстратов с желудочным соком осуществлялась при pH 2, после этого проводили нейтрализацию pH до 8 раствором NaOH и добавлением фосфатного буфера с pH 8,2, затем проводили исследование без добавления и с добавлением разведенной желчи и далее проводили инкубацию субстрата с поджелудочным соком. В исследованиях без преинкубации добавляли дистиллированную воду в объеме использованного желудочного сока и эквивалентном объемном количестве с потраченным раствором NaOH, а также соответствующим добавлением фосфатного буфера. В качестве контроля брались показатели липолитической активности без добавления белков.

Статистическая обработка была проведена методом вариационной статистики с вычислением средних величин и их средних ошибок, определением коэффициента достоверности разности Стьюдента-Фишера (t). Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$ и менее.

Результаты. Результаты исследований показали, что при применении казеина в качестве эмульгатора, липолитическая активность значительно снижается при использовании его в концентрации 0,1% и это снижение активности продолжается с увеличением концентрации казеина до 0,4%, когда полностью отсутствует липолитическая активность и равна нулю (рис. 1А).

После предварительной 30 минутной инкубации (преинкубации) субстратов казеина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов, липолитическая активность значительно, но не достоверно снижается при концентрации 0,1%, но этот показатель был достоверно выше, чем таковой без преинкубации с желудочным соком. Это снижение активности липазы продолжается с увеличением концентрации казеина до 0,5%, когда полностью отсутствует липолитическая активность и равна нулю. В тоже время все показатели активности липазы были достоверно выше таковых показателей без преинкубации с желудочным соком (рис. 1А).

Подобная тенденция динамики изменения активности липазы с использованием в качестве эмульгатора казеина различной концентрации отмечалась и после 60 минутной преинкубации с желудочным соком. В тоже время снижение активности липазы, до полного её отсутствия проявляется при концентрации казеина 0,6%. При этом все показатели липолитической активности после 60 минутной преинкубации с желудочным соком были достоверно выше таковых показателей без преинкубации и выше таковых показателей после 30 минутной преинкубации с желудочным соком (рис. 1А).

Результаты исследований показали, что при применении казеина в качестве эмульгатора совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 12% повышалась и затем значительно снижалась при использовании концентрации до 16%, когда полностью отсутствует липолитическая активность и равна нулю (рис. 1Б).

После предварительной 30 минутной инкубации (преинкубации) субстратов казеина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов совместно с желчью. При увеличении концентрации белка липолитическая активность не достоверно увеличивалась по отношению к показателям без преинкубации и повторяла динамику этих показателей, но при концентрации свыше 12% показатели значительно снижались и при концентрации казеина в 24% липолитическая активность полностью отсутствовала. При этом все показатели липолитической активности после 30 минутной преинкубации субстратов казеина при его концентрации свыше 10% достоверно отличались от таковых без преинкубации (рис. 1Б).

Применение субстратов казеина различной концентрации после предварительной 60 минутной преинкубации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов совместно с желчью, было установлено. Что липолитическая активность при увеличении концентрации казеина выражено, но не достоверно увеличивалась по отношению к показателям без преинкубации и 30 минутной преинкубации и повторяла динамику этих показателей, но при концентрации свыше 16% показатели значительно снижались, а при концентрации казеина в 36% липолитическая активность равнялась нулю. При этом все показатели липолитической активности после 60 минутной преинкубации субстратов казеина при его концентрации свыше 10% достоверно отличались от таковых без преинкубации (рис. 1Б).

Обсуждение результатов. Полученные данные показывают, что казеин в отсутствие желчных кислот обладает ингибирующим действием на липазу в составе панкреатического сока в более низких концентрациях. В тоже время казеин, используемый в качестве эмульгатора, совместно с желчью, ингибировал липазу при значительно более высоких концен-

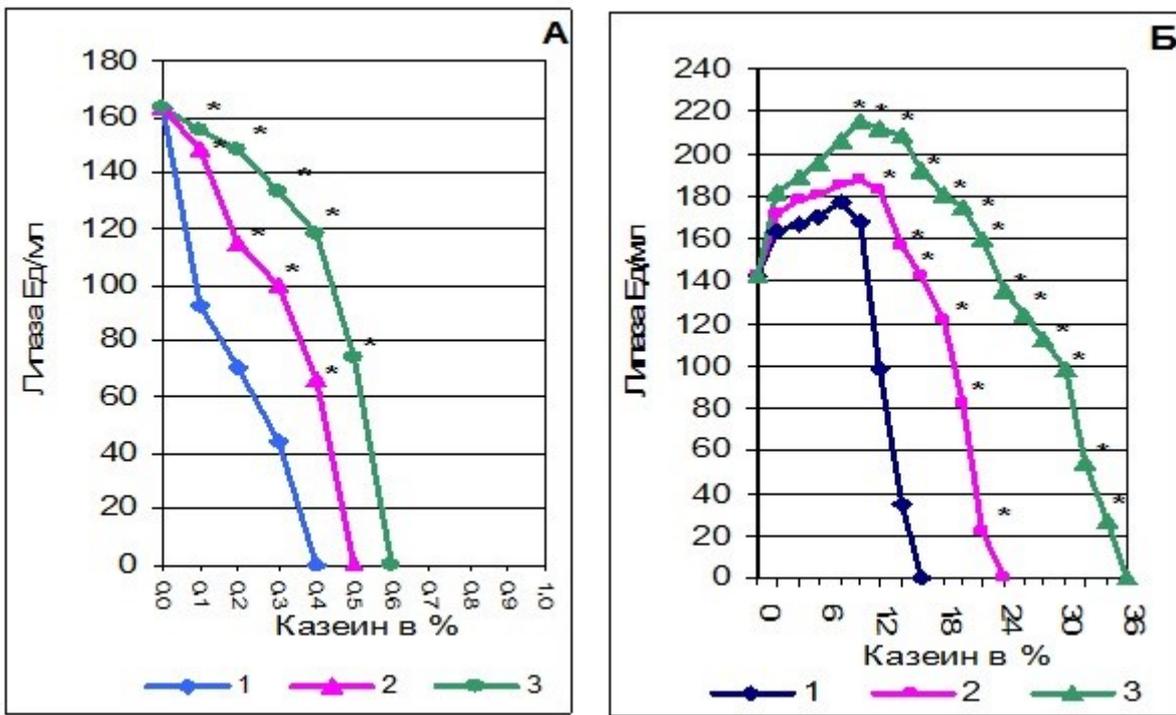


Рис. 1. Влияние казеина различной концентрации совместно в присутствии (А) и отсутствии (Б) желчи на активность липазы ($\times 10^3$) поджелудочного сока, до и после гидролиза белков желудочным соком.

Примечание: 1- без преинкубации с желудочным соком,
 2- после 30 мин. преинкубации с желудочным соком,
 3- после 60 мин. преинкубации с желудочным соком.

*- достоверно отличающиеся величина по отношению к показателям без преинкубации с желудочным соком.

трациях. При увеличении концентрации казеин сначала вызывал повышение активности панкреатической липазы, возможно за счет увеличения эмульгируемости смешанного субстрата используемого для определения панкреатической липазы. Затем при достижении концентрации казеина до определенного уровня, отмечалось значительное снижение активности липазы, которое доходило до нуля.

После 30 минутной, а еще в большей мере после 60 минутной преинкубации с желудочным соком казеина и дальнейшем использовании его в качестве эмульгатора. Липолитическая активность панкреатического сока, как в присутствии так и отсутствии желчных кислот, по сравнению с таковыми показателями без преинкубации, достоверно повышалась.

Выводы: Таким образом, можно заключить, что предварительный гидролиз белков пепсинами в желудке способствует не только дальнейшему улучшению гидролиза их под влиянием протеолитических ферментов поджелудочного сока (триптической атакуемости белков), но также снижению связывающей способности их с желчными кислотами и улучшению гидролиза жиров под влиянием панкреатической липазы.

Этот факт, возможно, является более важным для гидролитической функции желудка, чем триптическая атакуемость белков в желудке и главным эволюционным фактором предварительного переваривания белков желудочным соком.

Использованная литература:

1. Курзанов А.Н. Метод определения липолитической активности биологических жидкостей//Лаб.дело. 1975. №12. С.746-747.
2. Boon-Seang Chu, A. Patrick Gunning, Gillian T. Rich et all. Adsorption of Bile Salts and Pancreatic Colipase and Lipase onto Digalactosyldiacylglycerol and Dipalmitoylphosphatidylcholine Monolayers //Langmuir, 2010, 26 (12), pp 9782–9793.
3. Delorme V. et al. Effects of surfactants on lipase structure, activity, and inhibition //Pharmaceutical research. 2011. Vol. 28. №. 8. pp.1831-1842.
4. Hosomi R, Fukunaga K, Nishiyama T, Yoshida M. Effects of porcine hemoglobin on serum lipid content and fecal lipid excretion in rats// J. Med. Food. 2014;17(3):302-9.
5. Hur S.J., Decker E.A., McClements D.J. Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during in vitro digestion //Food Chemistry. 2009. Vol. 114. No. 1. pp.253-262.
6. Speranza A., Corradini M.G., Hartman T.G., Ribnicky D., Oren A., Rogers M.A. Influence of emulsifier structure on lipid bioaccessibility in oil-water nanoemulsions// J. Agric. Food Chem., 2013, Vol. 61, No. 26, pp.6505-6515.
7. Vinarov, Z., Tcholakova, S., Damyanova, B., Atanasov, Y., Denkov, N.D., Stoyanov, S.D., & Lips, A. Effects of emulsifier charge and concentration on pancreatic lipolysis: 2. Interplay of emulsifiers and biles //Langmuir. 2012. T. 28. №. 33. C. 12140-12150.
8. Vinarov, Z., Petrova, L., Tcholakova, S., Denkov, N.D., Stoyanov, S.D., & Lips, A. In vitro study of triglyceride lipolysis and phase distribution of the reaction products and cholesterol: effects of calcium and bicarbonate //Food & function. 2012. T. 3. №. 11. C. 1206-1220.